

Travaux du Laboratoire de Botanique Agricole

THÈSES

présentées à la

Faculté des Sciences de l'Université de Nancy

pour obtenir le titre de

Docteur de l'Université de Nancy
(Mention Sciences)

par

Elias M. MOUBARAK

INGÉNIEUR DE L'INSTITUT AGRICOLE DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY

1^{re} THÈSE. — Contribution à l'étude expérimentale de la Gommose
bacillaire du Mûrier.

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 19 Janvier 1935, devant la Commission d'examen

Président : M. GAIN, Professeur à la Faculté des Sciences, Directeur de
l'Institut Agricole et Membre Correspondant de l'Académie d'Agriculture de France.

Examineurs { MM. BOUIN, Professeur à la Faculté des Sciences, Directeur
de l'Institut de Zoologie appliquée.
RAYBAUD, Maître de Conférences de Botanique à la
Faculté des Sciences.

IMPRIMERIE CAMILLE ANDRE, MICHEL & C^{ie},
1, Boulevard Jean-Jaurès,
NANCY

1935

THÈSES

présentées à la

Faculté des Sciences de l'Université de Nancy

pour obtenir le titre de

Docteur de l'Université de Nancy
(Mention Sciences)

par

Elias M. MOUBARAK

INGÉNIEUR DE L'INSTITUT AGRICOLE DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY

1^{re} THÈSE. — Contribution à l'étude expérimentale de la Gombose
bacillaire du Mûrier.

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le

1935, devant la Commission d'examen

Président : M. GAIN, Professeur à la Faculté des Sciences, Directeur de
l'Institut Agricole et Membre Correspondant de l'Académie d'Agriculture de France.

Examineurs { MM BOUIN, Professeur à la Faculté des Sciences, Directeur
de l'Institut de Zoologie appliquée.
RAYBAUD, Maître de Conférences de Botanique à la
Faculté des Sciences.

IMPRIMERIE CAMILLE ANDRE, MICHEL & C^{ie},
1, Boulevard Jean-Jaurès,
NANCY

1935

Université de Nancy — Faculté des Sciences

Doyen : M. CORNUBERT

Assesseur : M. GAIN

Doyens honoraires : MM. PETIT, LEAU

Professeurs honoraires : MM. CARTAN, BLAISE,
THOULET, GUYOT, GUNTZ, GRIGNARD, E. DARMOIS,
GUTTON, PETIT, CROZE

Maîtres de conférences honoraires : MM. FÉRÉE, DELATOUR
RICHARD, FRIEDEL

Professeurs :

MM. CUÉNOT	Zoologie.
MAUDUIT	Electrotechnique.
GAIN	Botanique.
HUSSON	Mécanique rationnelle.
TRAVERS	Chimie industrielle.
VAVON	Chimie organique.
BOURION	Chimie physique et Electrochimie.
LEAU	Calcul différentiel et intégral.
N.	Analyse supérieure.
FALLOT	Géologie.
CORNUBERT	Chimie.
LONGCHAMBON	Minéralogie.
COURTOT	Chimie appliquée à la teinture.
MENTRE	Mécanique appliquée.
BOUIN	Zoologie appliquée.
DE MALLEMANN	Physique.
JOLY	Géologie de Lorraine.
CHEVALLIER	Physique.
LAFFITTE	Chimie minérale.

Maîtres de conférences :

MM. RAYBAUD	Botanique.
DELSARTE	Mathématiques appliquées.
POIROT	Physique.
LAPORTE	Physique.

Chargé de cours :

M. DUBREIL	Analyse supérieure.
------------------	---------------------

Maître de conférences adjoint :

M. FRIEDEL	Botanique.
------------------	------------

Secrétaire : M. BERTRAND



A MES PARENTS

A MES MAITRES

A M. EDMOND GAIN,

Professeur à la Faculté des Sciences

Membre correspondant de l'Académie d'Agriculture de France

Témoignage d'affection et de
reconnaissance.

A M. ETIENNE FOËX,

*Directeur de la Station Centrale de Pathologie Végétale
de Versailles*

Qui m'a donné le goût de la
recherche en pathologie végétale.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

PREMIÈRE THÈSE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

DE LA

GOMMOSE BACILLAIRE DU MURIER

AVANT-PROPOS

Les maladies bactériennes des plantes intéressent de plus en plus la pathologie végétale. A notre époque, peu d'auteurs s'attachent encore à la notion de LAURENT, que des bactéries banales pouvaient, en modifiant les conditions de nutrition, se transformer en races parasites des végétaux, alors que les champignons saprophytes, cela est démontré, peuvent donner des races à aptitude parasitaire. ERWIN SMITH, par ses nombreux travaux, a contribué le plus à démontrer que cette notion de LAURENT concernant les bactéries est basée sur des expériences imprécises, et que les bactéries phytopathogènes sont strictement caractérisées, de telle sorte qu'il ne saurait être question de les confondre avec les bactéries banales.

Au cours d'un stage, que nous avons effectué l'été de 1933 à la station centrale de phytopathologie de Versailles, nous avons profité de l'occasion pour observer dans les pépinières de la station, une maladie bactérienne, la gommose bacillaire du mûrier; il nous a semblé très intéressant d'isoler la bactérie pathogène et de la mettre à l'épreuve de l'inoculation. M. le Professeur GAIN nous a proposé d'étudier expérimentalement les conditions de développement de cette maladie et de rechercher surtout les voies naturelles de pénétration de la bactérie dans la plante, qui sont jusqu'ici inconnues. Cette proposition de notre éminent professeur, nous l'avons acceptée avec plaisir et, dès lors, nous avons apporté des mûriers de différentes

espèces et variétés au jardin botanique de Nancy; nous avons fait aussi des semis de plusieurs variétés, pour servir à l'expérimentation.

Le travail scientifique a été fait successivement à la station centrale de Versailles, sous la direction de MM. les Professeur FOEX et ARNAUD, puis à l'Institut agricole de Nancy, sous la direction de M. le Professeur GAIN, puis à la Sorbonne, dans le laboratoire de cytologie de M. le Professeur GUILLIERMOND. Qu'il nous soit permis ici d'exprimer toute notre reconnaissance et nos vifs remerciements envers nos éminents maîtres.

Nous présentons nos remerciements à M. BOUIN, professeur à la Faculté des Sciences et directeur de l'Institut de zoologie appliquée; à M. RAYBAUD, maître de conférences à la Faculté des Sciences, qui ont bien voulu être nos examinateurs; à M. LASSEUR, professeur de microbiologie à la Faculté de Pharmacie, pour le bon accueil qu'il nous a réservé dans son laboratoire, où nous avons fait une partie du travail microbiologique. Qu'il nous soit permis ici d'adresser notre reconnaissance à l'éminent bactériologiste qui nous a éclairé par ses suggestions et ses critiques. A Mme LASSEUR, M. le docteur DOMBRAY, M. MARÉCHAL, Mlle RENAUX, Mme HUREL, Mlle DELAPORTE, M. BARTHELET, Mlle GAUDINEAU, Mlle COLLIETZ, M. LENOIR, M. PHILIP, jardinier-chef du jardin botanique de Nancy, M. HAMANT; et à tous ceux qui ont contribué à me permettre de conduire cette étude à bonne fin.

GÉNÉRALITÉS SUR LES MALADIES BACTÉRIENNES

INTRODUCTION HISTORIQUE

Le plus ancien travail attribuant une maladie de plante à une bactérie fut celui de BURRILL (12) et (13) qui, en 1878, a démontré que la maladie de poirier « pear blight », qui a causé des grands ravages aux Etats-Unis, est due aux attaques d'un micro-organisme qu'il a appelé *Micrococcus amylovorus* (BURRILL) de Toni. Son travail a été suivi par celui de PRILLIEUX (42) en 1879, sur la maladie du blé rose, maladie due, d'après lui, à un micrococcus, *Micrococcus tritici* (PRILLIEUX), et par celui de WAKKER (60) et (61) sur la maladie de jaunissement de la jacinthe, due au *Bacterium hyacinthi* (WAKKER), publié entre 1883 et 1889.

Malgré l'évidence apportée par ces auteurs, un grand doute subsistait chez beaucoup de phytopathologistes pour admettre, chez les plantes, l'existence des maladies bactériennes. HARTIG (28), en 1882, exprimait son opinion que: étant donné la structure externe et l'absence des canaux circulatoires qui peuvent servir à la distribution des micro-organismes, la plante est protégée de leurs attaques; et, d'autre part, le suc cellulaire ayant une réaction acide est un milieu défavorable pour leur développement. Par conséquent, il semblait douteux d'admettre chez les végétaux la possibilité de maladies bactériennes. DE BARY (7) et

(8), en 1884, a écrit que les maladies bactériennes des plantes sont rarement observées et, en 1885, il déclare que l'état actuel des connaissances semble démontrer que les bactéries parasites n'ont qu'une importance minime, en tant qu'agents pathogènes des plantes.

En dépit des opinions exprimées par ces éminents phytopathologistes, des nombreux faits, en faveur du parasitisme des bactéries, sont graduellement accumulés. Le travail de BURRILL (12) et (13) sur le « pear blight » a été confirmé par ARTHUR (5) et (6), en 1884-1886, et un peu plus tard par WAITE (59), qui a isolé l'organisme *Bacillus amylovorus* (BURRILL) Trevisan, réussissant des inoculations qui reproduisent la maladie. SAVASTANO (44 b.), en 1887, a démontré la présence constante des bactéries dans les tumeurs des oliviers malades, et a isolé un organisme et obtenu des tumeurs typiques en inoculant cet organisme aux rameaux sains.

Les premiers chercheurs n'ont pas travaillé avec toute la rigueur expérimentale désirable et souvent une étude microscopique leur semblait suffisante pour attribuer telle maladie à tel micro-organisme sans autres épreuves. C'est pourquoi on rencontre souvent dans leurs travaux les noms micrococcus, pleurococcus, etc., d'agents pathogènes connus maintenant comme simples saprophytes. Même quand ils faisaient des isollements et des essais d'inoculation, leurs cultures étaient souvent impures, et leurs expériences n'étaient pas rigoureuses. Ce n'est pas rare de trouver une expérience aboutissant à un résultat négatif, ou attribuant la maladie à un saprophyte. Nous pouvons citer l'exemple d'ARCANGELI (1). En 1886, ARCANGELI a décrit la maladie de la tumeur bactérienne de l'olivier. Au microscope, il a observé une bactérie qu'il a appelée *Bacterium oleoe* (ARCANGELI), auquel il attribuait la maladie; sans faire des isole-

ments et des épreuves de son pouvoir pathogène. Au *Bacterium oleoe* Arcangeli, il a attribué aussi la gommose bactérienne du mûrier ; comme d'autres auteurs, il a considéré seulement la morphologie, ce qui est insuffisant et souvent impossible pour distinguer les espèces phytopathogènes.

Le vrai travail ne commence qu'avec ERWIN SMITH (46) qui, en 1895, a décrit une maladie bactérienne de concombres, cantaloups et courges, provoqués par *Bacillus tracheiphilus*, E.-F. Smith. En 1896 (47), il a publié ses investigations sur le rot des pommes de terre et tomates, causé par *Bacterium solanacearum* E.-F. Smith ; et a confirmé le travail de PAMMEL (38) sur le rot brun des crucifères dû au *Bacterium Campestre* (PAMMEL) E.-F. Smith (48). Le parasitisme de chacun de ces micro-organismes a été rigoureusement établi ; l'évidence étant basée sur les règles des épreuves préconisées par KOCH : l'organisme a été trouvé constamment associé avec la maladie, fut isolé et étudié en culture pure ; les symptômes caractéristiques ont été reproduits par inoculations avec des cultures pures, et l'organisme fut réisolé et identifié avec celui qui avait été inoculé. SMITH a combattu contre tous ceux qui ont nié ou douté du parasitisme des bactéries, et ce n'est que grâce à lui que, depuis 1901, la majorité des phytopathologistes ont admis l'existence des maladies bactériennes. Depuis, les recherches se sont multipliées, qui démontrent que de nombreuses associations bactériennes parasitaires sont rencontrées chez les végétaux dans les organes les plus divers. Le livre d'ERWIN SMITH : *Bacteria in Relation to Plant Disease*, en trois volumes (48), publié entre 1905 et 1914, donne à cette date un exposé très synthétique des connaissances acquises sur les maladies bactériennes des plantes. Dans la bibliographie française, c'est le traité de pathologie végétale d'ARNAUD (4) qui nous documente le

mieux sur la maladie bactérienne du mûrier, qui a fait l'objet de notre étude particulière.

SYMBIOSE

Il a été suffisamment prouvé que les bactéries n'existent pas normalement dans les tissus des plantes saines. Mais il y a des cas bien établis de symbiose, où la plante tolère et même bénéficie de la présence des bactéries dans ses tissus. L'hypothèse que la relation entre la bactérie des nodosités radiculaires et la plante hôte est d'abord une vraie symbiose, dans lequel l'organisme et la plante hôte bénéficient de l'association, a perdu sa vigueur en face des recherches récentes. Loin de faciliter la pénétration de *Bacillus radicola* dans ses tissus, la plante hôte manifeste une résistance déterminée. Les poils absorbants constituent la voie de pénétration, et il se produit au point d'invasion une réaction bien définie du tissu. Différentes virulences ont été observées dans les bactéries envahissantes. Il y a des races qui ne peuvent pas pénétrer du tout, d'autres pénètrent et provoquent une réaction dans le tissu qui détermine la formation avantageuse des nodosités; et l'on a trouvé aussi qu'il y a d'autres races qui nuisent à la plante hôte. On a même prétendu que, dans certains cas, les bactéries des nodosités radiculaires peuvent devenir des parasites. VAN DER WOLK (63), en cultivant des sojas dans des conditions défavorables et ensuite inoculant la bactérie, a pu déterminer une maladie chez ces sojas, provoquant leur étiolement et pouvant finalement déterminer leur mort. Il considère que ce trouble est dû à l'abaissement de la résistance et à la diminution des principes de protection. Une assise fonctionne normalement comme un or-

gane absorbant et aussi comme une barrière qui arrête les bactéries radiculaires. L'absence ou l'inefficacité de cette barrière permet à ces bactéries de devenir de véritables parasites. Ce trouble paraît fréquemment chez les arachides végétant dans des conditions défavorables. Bref, les bactéries de nodosités radiculaires se comportent vis-à-vis de la plante hôte, au moins au commencement, comme des véritables parasites contre lesquelles la plante lutte ; et finalement un état d'équilibre se produit, par lequel les bactéries et la plante hôte bénéficient de cette association qu'on qualifie habituellement d'association symbiotique.

ORGANISMES PATHOGENES DES PLANTES

Les micro-organismes connus jusqu'ici comme phytopathogènes appartiennent, pour la plus grande partie, à la famille de Bactériacées et au groupe des Bacillés. Dans le groupe de Coccés, il n'y a qu'un seul micro-organisme connu pour être pathogène, c'est le *Micrococcus populi* G. Delacroix, qui provoque le chancre du peuplier. Les bacillés ont, comme on le sait, la forme de bâtonnets plus ou moins allongés, ciliés ou non. SMITH donne le nom de *Bacterium* aux bâtonnets ayant des cils disposés à l'une ou aux deux extrémités de la cellule bactérienne (cela correspond au genre *Pseudomonas* dans la classification de MIGULA, et au genre *Phytomonas* dans la classification de la Soc. Bact. Amé.) et le nom *Bacillus* est donné pour les bâtonnets ayant les cils répartis à la périphérie de la cellule (même nom que Migula, qui correspond au genre *Erwinia* dans la classification de la Soc. Bact. Amér.), et le nom *Aplanobacter* est réservé pour les bâtonnets non mobiles (*Bacterium* pour Migula et *Phytomonas* pour la Soc. Bact.

Amér.). La classification de SMITH est la plus employée dans la littérature sur les maladies bactériennes des plantes.

Ces micro-organismes se développent bien sur les milieux de culture en usage dans les laboratoires et c'est une épreuve suffisante qu'ils sont des parasites facultatifs. Cependant leur développement dans la nature est encore peu connu en dehors de la plante hôte, malgré le fait établi que certains parasites peuvent survivre longtemps dans le sol. Il est très difficile d'isoler de tels organismes du sol, mais il est connu, par exemple, que des jeunes pieds de tomates et de tabacs ayant des blessures aux racines, et transplantés dans un sol contaminé de *Bacterium solanacearum* E.-F. Smith, s'infectent facilement; de même *Bact. tumefaciens* Smith et Townsend dans un sol où on a trouvé des plantes atteintes de crown gall, infecte facilement des jeunes pieds repiqués dans le même sol. Ces bactéries supportent l'acidité de plantes et peuvent, dans certains cas, élaborer des produits pour neutraliser le milieu. La température optimum du développement se trouve entre 20° c. et 30° c. Très peu se développent à la température du sang; il n'est donc pas surprenant de trouver que les inoculations des animaux par les parasites de plantes, et vice versa, ne réussissent pas. Une intéressante exception à cette règle a été observée dans les Antilles par JOHNSTON (30) dans le rot des bourgeons de la noix de coco. Cette maladie est provoquée par un organisme indistinguishable de *Bacillus coli*, et des inoculations des jeunes pieds des noix de coco avec *B. coli* d'origine animale, ont donné des infections similaires à celles des infections produites par des inoculations avec l'organisme isolé de la noix de coco.

Beaucoup des espèces, comme par exemple *Bact. tabacum* Wolf et Foster, sont extrêmement résistantes à la des-

sication. En travaillant sur *Bact. Mori* (B. et L.) Smith, nous avons pu l'isoler des rameaux qui ont été laissés à dessécher dans le laboratoire pendant huit mois. Très peu de ces bactéries produisent des endospores, les seules connues: *Bact. Malvacearum* Smith qui provoque la maladie des taches angulaires du cotonnier et *Bact. Seminum* (Cayley) Stevenson (sur *pisum sativum*). D'autres espèces, comme par exemple *Bacillus tracheiphillus* E.-F. Smith, qui provoque le rot des cucurbitacées, sont très sensibles à la dessiccation et à la lumière solaire.

Quoique, comme une règle générale, un parasite infecte seulement un genre ou des genres voisins, par ex.: *Bact. citri* (Hasse) Jehle (chancre des orangers), *Bact. juglandis* (Pierce) Smith (rot du noyer) et *Bact. Campestre* (Pammel) Smith (crucifères), etc., il y a des parasites qui attaquent plusieurs familles. Un de ces parasites le mieux connu est *Bact. tumefaciens* Smith et Townsend, qui infecte des *Rosacées*, des *Composées*, des *Salicacées*, des *Légumineuses*, des *Crucifères*, des *Solanées*, des *Chenopodiées*, des *Ombellifères* et des *Géraniacées*. Parfois, chez une espèce parasite, il existe des races plus ou moins virulentes, comme chez *B. tabacum* Wolf et Foster et *B. solanacearum* E.-F. Smith; et il peut arriver que l'organisme perde complètement sa virulence, à cause des transferts, de l'action d'un bactériophage, et parfois il est totalement éliminé par l'antagonisme d'une autre espèce. Nous avons constaté ce dernier fait chez *B. mori* (B. et L.) E.-F. Smith et *B. tabacum* Wolf et Foster. Peut-être la perte de virulence dans tous les cas est due, soit à l'action d'un bactériophage, soit à l'antagonisme d'une autre espèce. On recommande, pour conserver l'espèce, de l'isoler souvent de la plante hôte et de la maintenir en culture pure.

MODE D'ACTION DES BACTÉRIES PATHOGÈNES SUR LA PLANTE

Le parasitisme d'un organisme dépend surtout de sa capacité de dissoudre la lamelle moyenne des cellules, et de produire un poison qui, en se diffusant à travers la membrane cellulaire, provoquera la mort du protoplasme. Il a été démontré par SPIECKERMANN (1902) (54), que la dissolution de la lamelle moyenne est provoquée par un enzyme qu'on peut extraire du jus des plantes malades aussi bien que des tubes de culture. La séparation des cellules et la plasmolyse ont lieu en même temps; et les cellules vivantes sont nettement séparées des cellules mortes (fig. 16, p. 55). C'est l'enzyme qui rend possible la pénétration du poison sécrété par les bactéries jusqu'aux tissus protoplasmiques. Après la mort du protoplasme, le suc cellulaire, qui est riche en substances nutritives, sera accessible aux bactéries et ainsi assure leur multiplication rapide, de façon que la plante n'aurait pas le temps de lutter contre cette invasion. En outre, la lamelle moyenne fournit à l'organisme une source de carbone, sous forme de pectate de calcium. Celui-ci peut neutraliser les acides qui sont souvent produits par beaucoup des espèces bactériennes en se développant sur les sucres. Les acides autrement peuvent retarder ou arrêter complètement leur développement aussi bien que l'action de l'enzyme actif que secrètent ces bactéries.

En outre, les bactéries, en se multipliant dans les méats, exercent une action mécanique par leur masse sur les cellules, qui finissent par être coincées, fracturées, déchirées, et enfin envahies. Dans des coupes d'une feuille de mûrier parasitée par *B. Mori* (B. et L.) Smith, nous avons trouvé

les cellules pallissadiques coincées par les bactéries de façon qu'on ne trouve plus de méats, qu'assez loin du foyer bactérien (fig. 15, p. 54). C'est pourquoi les jeunes cellules, ayant leur paroi cellulaire relativement moins épaisse, et les tissus ayant de larges méats, sont sensibles à l'attaque bactérienne.

Les dégâts des bactéries sont d'autant plus grands que les tissus sont jeunes et renferment beaucoup d'eau et de substances nutritives assimilables, sans avoir formé déjà des substances inhibitrices. Car, plus tard, l'eau devient relativement moindre et la paroi cellulaire s'épaissit. En outre, les sucres, les protéides, les acides aminés, etc., sont consommés par les cellules et convertis en des substances peu assimilables par les bactéries, parfois même nuisibles. Par exemple, l'acide malique, qui abonde à la maturité dans les prunes, empêche l'infection. On comprend donc que l'évolution chimique d'un tissu ou d'un organe réalise, aux diverses époques, des conditions plus ou moins favorables à l'infection et à l'action particulière du parasite.

Mais, malgré ces changements dans les tissus adultes, il y a des bactéries qui peuvent encore les parasiter et les détruire ; par ex. : la moelle de la tige adulte de chou, les racines adultes de la betterave et du navet, les fruits bien développés de melon et de concombre, etc... Les parasites des tissus adultes n'exigent pas beaucoup d'eau pour convertir l'amidon en sucre.

Il faut ajouter à l'action des bactéries parasites l'action des bactéries de surface, qui complètent la destruction des tissus. Parfois, quand il y a un antagonisme entre les bactéries parasites et celles de surface, les premières sont complètement éliminées par les deuxièmes, de sorte que l'isolement de l'espèce pathogène, à partir des parties de la plante trop altérées, devient impossible. Ce fait nous est

arrivé en travaillant sur *B. mori* et *B. tabacum* Wolf et Foster.

Extérieurement, il y a de nombreux facteurs qui favorisent l'infection: l'ombre excessive des nuages ou des feuillages; et un autre, c'est la chaleur. Quand ces deux facteurs sont accompagnés par des pluies excessives, des vents humides, terre humide et rosées, ils créent des conditions idéales pour l'infection et la dissémination des micro-organismes. En travaillant sur *B. mori*, nous avons constaté de grandes différences dans les altérations, entre les mûriers ombrés dans l'orangerie du jardin botanique et ceux qui se trouvaient en plein air.

REACTION DE LA PLANTE

La plante n'est pas passive vis-à-vis des parasites et elle agit souvent pour arrêter sa progression, surtout quand l'organisme n'est pas très virulent. Dans des maladies diverses la végétation est ralentie, et la plante enlève l'amidon situé du côté voisin des bactéries pour former une barrière de liège. Cette barrière est parfois suffisante pour arrêter la progression du parasite, si ce dernier se développe lentement. Les thylls qui paraissent dans les vaisseaux de bois forment un véritable obstacle pour la progression des bactéries. On peut les observer dans toutes les maladies vasculaires. Les organes peuvent se développer en nombre excessif et parfois anormalement; par ex.: des racines ou des rameaux sur le crown gall, balais de sorciers sur le pin, des racines adventives sur les tiges de tabac, chrysanthème, etc... Le changement de couleur est aussi observé. Les organes envahis peuvent devenir plus verts qu'à l'état normal, et leur chlorophylle per-

siste plus longtemps. Les fruits de tomate envahis sont plus verts que les sains. Dans les feuilles de haricots (atteintes par la grasse bactérienne), la chlorophylle persiste au voisinage des taches; tandis que le reste de la feuille devient jaune. Parfois, les parties envahies présentent différentes couleurs. Dans certains cas, la présence des bactéries dans les tissus amène le développement prématuré des organes; c'est ainsi que l'inflorescence mâle de maïs attaqué par *Aplanobacter stewarti* (57) mûrit prématurément et devient blanche.

La réaction la plus claire c'est la formation, par hypertrophies et hyperplasies, des chancres, des tubercules et des tumeurs, comme on les voit sur les oliviers, pins, betteraves, chrysanthemum, etc... SMITH (53) a démontré que la division rapide des cellules est provoquée par l'excès d'acidité et la diminution d'oxygène, causées par la présence des bactéries. Les cellules, en se divisant ainsi, augmentent leur surface d'absorption d'oxygène. Dans beaucoup de tumeurs, on observe une grande réduction du système vasculaire et une grande multiplication du parenchyme; dans ces cellules, les sucres, l'amidon, les acides et les enzymes augmentent en quantité. On a aussi remarqué que, dans le voisinage des bactéries, les cellules ayant leur métabolisme troublé par un stimulus des bactéries, forment des dépôts phénoliques dans leurs vacuoles. En trempant des coupes de feuilles de mûrier parasitées par *B. mori*, dans une solution de caféine saturée ou de bichromate de potasse saturée, nous n'avons pas observé ces dépôts. Les cellules peuvent avoir plusieurs noyaux. SMITH (49) signale l'existence de deux noyaux dans les cellules de la galle du rosier. Nous n'avons trouvé dans les cellules des feuilles de mûrier atteintes qu'un seul noyau (en employant le Bouin comme fixateur).

Etant donné la valeur minime des plantes, comparative-ment aux animaux, la formation des anticorps chez les végétaux n'a guère fait l'objet de recherches. Mais, récemment, on a constaté ce fait très intéressant. En France, M. Lasseur ⁽¹⁾ et ses collaborateurs, et Mlle Th. FRÉMONT ⁽²⁾, ont, en particulier, constaté l'existence d'agglutinine végétale chez quelques plantes.

VOIES DE PENETRATION DES BACTERIES DANS LES PLANTES

La voie de pénétration la plus commune est par les blessures. En Italie, la tuberculose de l'olivier, due au *Bacillus* (Savastanoi) E.-F. Smith, débute dans les blessures provoquées par les grêlons. Au Cap, crown gall est disseminé par le même moyen. *Bact. solanacearum* E.-F. Smith infecte les pieds de tomate et de tabac, par des blessures dans les racines. Nous avons démontré, dans ce travail, que *B. mori* pénètre les jeunes semis de mûrier par des blessures des racines. On suppose que les racines mutilées diffusent dans le sol des substances attirantes pour le parasite. Les plantes résistantes sont supposées diffuser des substances non attractives pour les micro-organismes.

On a pensé, jusqu'à récemment, que la voie des blessures était le seul moyen de pénétration des bactéries dans les plantes; mais les nouvelles recherches ont démontré que les ouvertures naturelles des plantes: nectaires, stomates et lenticelles, offrent dans certains cas des voies de pénétra-

(1) LASSEUR (Ph.), DOMBRAY (P.) et DUPAIX (A.). — Recherches des agglutinines chez *Opuntia*. (Travaux du Lab. de Micro. de la Faculté de Pharm. de Nancy, fasc. IV, 1931, pp. 217-221).

(2) FRÉMONT (Th.). — Rech. d'anticorps chez les végétaux (C.-R. Soc. Biol. de Lille, t. CXII, 1933, pp. 998-1000 et t. CXIII, 1933, pp. 775-777).

tion. WAITE (59 et 59 b.) a démontré que dans toutes les *Pommacées* sujettes à la maladie du feu « fire blight », due au *Bacillus Amylovorus* (Burrill) Trevisan, les bactéries transportées par les insectes pénètrent la plante par les nectaires, où elles se multiplient tout d'abord, puis passent à la tige en traversant l'ovaire et le pédoncule. SMITH (49) a prouvé que *Bact. pruni* E.-F. Smith, qui provoque la maladie de taches noires chez les pruniers, pénètre la plante par les stomates, et que *Bact. Canpestre* (Pammel) E.-F. Smith, qui cause le « rot brun » du chou, pénètre par les stomates aquifères. Il a été trouvé aussi que dans la maladie du chancre de l'oranger due au *Bact. citri* (Hasse) Jehle, dans la maladie des taches angulaires du cotonnier due au *Bact. malvacearum* E.-F. Smith, dans la maladie tachetée de l'œillet due au *Bact. woodsii* E.-F. Smith — et dans d'autres maladies encore — que les stomates forment une voie de pénétration. Pour *Bact. mori* (B. et L) E.-F. Smith, il est démontré par nous qu'il pénètre les feuilles de mûrier par les stomates (fig. 10, p. 38) et (fig. 13, p. 50).

Si on considère les Actynomyces comme des bactéries, on trouve une autre voie naturelle de pénétration, qui est les lenticelles. Celles-ci, dans un sol humide, se gonflent et se déchirent, offrant ainsi une voie de pénétration. Le *Scab* de la pomme de terre et de la betterave débute dans les lenticelles. Les bactéries, en se multipliant énormément à l'intérieur des rameaux, sortent parfois à l'extérieur par les lenticelles, comme dans la maladie de la gommose bacillaire du mûrier (fig. 1, p. 30).

AGENTS DE TRANSMISSION

Il y a bien des cas où la plante même abrite le parasite indéfiniment d'une année à l'autre. C'est le cas du crown gall, gommose bacillaire du mûrier, chancre de l'oranger, feu du poirier, « fire blight », etc... Dans beaucoup de cas, la maladie se transmet par les organes de propagation. Le rot du maïs, du chou, du concombre, du pois, et bien d'autres maladies se transmettent par les graines. Le jaunissement de la jacinthe se transmet par la bulbe. *Bact Solanacearum* Smith s'abrite dans les tubercules de pomme de terre. Le crown gall peut se répandre par des greffons infectés. C'est pourquoi les maladies bactériennes ont été largement disséminées par des pépiniéristes et marchands de graines.

Dans le cas où les micro-organismes pénètrent la plante hôte par les nectaires, les insectes sont souvent les agents de transmission, et dans les cas où ces micro-organismes pénètrent par les blessures, ce sont les insectes, les nématodes, les mollusques et peut-être les oiseaux, qui servent comme agents de transmission. WAITE (59 et 59 b.) a démontré expérimentalement que l'abeille transmet la maladie du feu du poirier « fire blight » et a pu isoler l'organisme *Bacillus Amylovorus* (Burrill) Trevisan de ses pièces buccales. Il a été également trouvé que les Aphides transmettent la même maladie. SMITH (53) a trouvé que le *Pieris* du chou (*Pieris brassiae*) transmet le rot brun, et que la flétrissure des Cucurbitacées se transmet par une blatte (*Diabrotica vittata*), qui préfère manger les parties malades plutôt que de manger les parties saines. Les nématodes parasites jouent un grand rôle dans la transmission des maladies dans le cas où les micro-organismes pénètrent par

les blessures des racines. Les mollusques transmettent le rot brun du chou et la tuberculose du laurier rose. Les oiseaux sont suspectés de transmettre la maladie du feu du poirier et le rot de la noix de coco, mais cela n'était pas prouvé. Des fruits mûrs, piqués du bec par un oiseau, peuvent être rapidement le siège d'une pourriture bactérienne aussi bien que mycélienne, occasionnée par l'infection des blessures.

Souvent, les bactéries s'associent avec les champignons et il se peut que les champignons commencent les dégâts, préparant ainsi le chemin pour les bactéries, comme dans le cas des pommes de terre atteintes par le *Phytophthora infestans*. Ce fait ne montre pas que les bactéries elles-mêmes ne peuvent pas pénétrer dans les tissus des plantes sans l'aide des champignons ; car le fait inverse a lieu, comme dans le cas de crown gall où *B. tumefaciens* Smith et Townsend commence les dégâts avant que les *Fusarium* surviennent.

Le sol peut être, pour des années, une source d'infection ; car il renferme toujours des débris de plantes atteintes ; l'eau d'irrigation, si elle a traversé des terrains infectés, les pluies, les vents, et surtout les vents humides, jouent le plus grand rôle dans la dissémination des maladies dont l'infection commence par les stomates. Des essais sur la maladie de taches angulaires du cotonnier (22) ont montré que en inoculant, dans un champ, un rang de cotonnier avec *Bact. malvacearum* Smith, la maladie a été disséminée sur les autres rangs pendant le temps pluvieux, dans la direction du vent dominant.

HISTORIQUE DE LA GOMMOSE

BACILLAIRE DU MURIER

Cette maladie, qu'on suppose originaire de l'Extrême-Orient, a été observée pour la première fois en Italie vers 1890, par CUBONI et GARBARINI (15). Depuis, cette maladie a été étudiée par un certain nombre d'auteurs ; mais ils n'ont pas donné des descriptions concordantes pour les altérations et pour le parasite, et c'est ainsi qu'on a décrit successivement plusieurs espèces bactériennes auxquelles on a attribué la maladie.

A cette époque cette maladie a reçu une attention considérable en Italie ; car on avait cru que la bactérie de la gommeuse pouvait aussi provoquer la flâcherie chez les vers à soie. CUBONI et GARBARINI (15) ont attribué la maladie à un *diplococcus* et ils prétendent avoir isolé des feuilles de mûrier cet organisme, dans une culture pure avec laquelle ils ont reproduit la maladie chez des pieds sains!!! Ils ont suggéré aussi que ce *diplococcus* a de la parenté avec *Streptococcus bombycis*, l'organisme qui provoque la flâcherie, et cause également la même maladie chez les vers à soie.

En 1892, MACCHIATI (33 et 34) a isolé du mûrier une bactérie jaune, *Bacillus cubonianus* Macchiati, à laquelle il a attribué la maladie et a prétendu aussi qu'elle était pathogène pour les vers à soie. MACCHIATI a décrit les caractères de « *Bacillus cubonianus* Macch. », comme ayant des colo-

nies jaunes sur gélose et liquéfiant la gélatine; formant des endospores et des capsules — caractères qui semblent exclure le rôle pathogène —; de plus, il n'a pas fait des inoculations. VOGLINO (58), en 1894, a étudié la maladie qu'il a attribuée au « *Bacillus mori* Voglino »; il a prétendu aussi qu'il était pathogène pour les vers à soie. Son travail n'a pas été confirmé. En 1897, PEGLION (40) et (41), a confirmé le travail de MACCHIATI et a fait des expériences d'inoculations sans contrôle (c'est-à-dire sans garder des témoins) sur des rameaux et des feuilles détachés et gardés humides sous une cloche; ce qui est une condition anormale pour la plante. Il prétend avoir reproduit la maladie sur des rameaux et des feuilles sains.

En France, BOYER et LAMBERT (11), ont décrit la maladie en 1893, et isolé une bactérie blanche avec laquelle ils ont reproduit la maladie avec succès; mais ils n'ont décrit que succinctement cet organisme qu'ils ont appelé « *Bacterium Mori*, Boyer et Lambert ».

ERWIN SMITH (50) et (51), travaillant aux Etats-Unis, en 1910, était incapable de reproduire la maladie avec la bactérie jaune probablement « *Bacillus cubonianus* Macch. », il a perdu tout un été dans ces essais; mais il a isolé une bactérie blanche avec laquelle il a reproduit la maladie. SMITH a conclu que, ou bien il y a deux maladies du mûrier, ou que les Italiens ont fait des inoculations avec un mélange bactérien. En se basant sur la description sommaire des altérations décrites par BOYER et LAMBERT, comme provoquées par l'organisme blanc, SMITH a nommé l'organisme « *Bacteriuna mori* (Boyer et Lambert) emend Smith ».

ARNAUD et SECRÉTAIN (2), en 1913, et ARNAUD (3), 1914-1916), ont étudié la maladie comme due au *Bactérium mori* (B. et L.) Smith. Ils ont démontré, en particulier, que ce

même organisme provoque des altérations sur les rameaux et sur les feuilles du mûrier; fait que quelques auteurs italiens ont pensé attribuer aux différents types de leurs micro organismes. En 1913, STEVENS (56), a attribué la maladie au « *Pseudomonas mori* (B. et L.) Stevens ». En 1915, Miss ETHEL DOIDGE (16) a signalé et étudié la maladie au Cap, comme dûe au *Bact. mori* (B. et L.) Smith. BERGEY (9), en 1923, a attribué la maladie au « *Phytomonas mori* (B. et L.) Bergey ». FERRARIS (23), en 1928, quoique convaincu que c'est la même maladie en Italie qu'en France, et ailleurs, a réclamé que: puisque PEGLION a obtenu des infections avec l'organisme de MACCHIATI, qui était probablement un mélange de deux organismes, l'un d'eux, le vrai agent pathogène étudié par SMITH, la synonymie doit être « *Bacterium cubanianum* Ferraris ». En 1928, PASINETTI (39), tout en attribuant la maladie à l'organisme de MACCHIATI « *Bacillus cubanianus* Macch. », a fait des essais de traitement.

RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE

La maladie a été signalée aux Etats-Unis, Japon, Russie, Italie, France, Afrique du Sud (DOIDGE (16), 1915), Australie (OSBORN (37), 1921), Angleterre (WORMALD (64), 1924), Bulgarie (CHRISTOFF (14), 1930), Roumanie (SAVULESCU (45), 1930). Il est très probable que cette maladie existe aussi dans les Etats du Levant. Les nombreux foyers d'infection, signalés depuis dix ans, dans les plantations de divers pays montrent l'intérêt qui s'attache à préciser les caractères de cette maladie en vue de lutter contre son extension géographique.

MATÉRIEL EMPLOYÉ

DANS NOS RECHERCHES PERSONNELLES

En plus des mûriers des pépinières de la station de phytopathologie de Versailles, qui ont été pour nous un sujet d'observation sur l'évolution de la maladie, pendant les étés 1933 et 1934, nous avons apporté au jardin botanique de Nancy, les variétés suivantes des mûriers, pour servir à l'expérimentation :

1° Une dizaine de pieds de *morus alba*, var. *lhou* (à grandes feuilles), (semis de 10-15 ans de la station de Versailles);

2° Une dizaine de pieds de *morus alba*, var. *Moretti*, (semis de 5 ans, de la station de Versailles);

3° Six pieds de *morus alba*, var. *lhou*, (semis de 2 ans, venant de chez Delunay, Angers);

4° Six pieds de *morus nigra*, var. *commune*, (semis de 2 ans, venant de chez Delunay, Angers);

5° Nous avons fait aussi des semis des variétés suivantes, que nous nous sommes procurés chez Vilmorin : *morus alba* (variétés : *lhou*, *moretti*, *fructa rosa*), *morus nigra*, variété commune ;

6° Un pied appartenant au jardin botanique de Nancy (*morus alba*, var. *moretti*, semis de 8-10 ans);

7° En outre, de mûriers des deux espèces, nous avons inoculé au jardin botanique, 7 espèces de *Ficus*, qui seront indiquées plus loin.

Tous les mûriers ont été gardés en pots dans l'orangerie du jardin botanique pour la plupart du temps, à l'exception de deux pieds de 10-15 ans (var. *lhou*) et le pied du jardin botanique, qui ont été plantés en plein air.

CARACTÈRES EXTERNES DE LA MALADIE OBTENUS EXPÉRIMENTALEMENT

Sur les jeunes rameaux, on observe de longues taches translucides et légèrement boursouflées. Ces taches peuvent atteindre une longueur variable de quelques centimètres à plusieurs décimètres, suivant la sévérité de l'attaque. Quelques jours après, on voit sortir des lenticelles, des petits filaments de gomme (fig. 1, p. 30). Ces petits filaments dressés, qui ressemblent à des vermicelles très fins, sont blancs ou jaunâtres, et ont la forme cylindrique. Dans peu de temps, ces vermicelles se contournent et si le temps est humide s'affaissent; les pluies persistantes les lavent presque complètement. Probablement, c'est pourquoi plusieurs auteurs ne les ont pas observés. Si on prélève avec une aiguille flambée et froide, un peu de cette gomme que l'on dilue dans une goutte d'eau stérile, on observe au microscope une innombrable quantité d'éléments du *Bact. mori*. Une incision longitudinale dans la tache translucide, à l'aide d'un scalpel, montre de la gomme par dessous l'écorce; ce fait montre la cause de la boursouffure de l'écorce. Quand il fait humide, cette gomme en gonflant, crève l'écorce et on voit une fente longitudinale tout le long de la tache.



FIG. 1. — Rameaux de mûrier montrant la gomme sortant des lenticelles en forme de vermicelles du côté inoculé.

Avec le temps, les taches translucides brunissent et enfin noircissement, prenant ainsi l'aspect des tissus morts (fig. 2, p. 31).

Dans l'infection expérimentale, il nous a fallu 7-10 jours après l'inoculation, pour provoquer l'écoulement gommeux, et au moins 25 jours pour le noircissement de ces taches. Par dessous le point d'inoculation, on ne voit pas d'altéra-



FIG. 2. — Rameau courbé atteint d'un seul côté (qui a noirci) ; la feuille F_1 insérée du côté non atteint continue à vivre normalement, tandis que la feuille F_2 insérée du côté atteint, est atteinte et enroulée.

tions. Quand les rameaux ont été inoculés d'un seul côté, ils continuent à vivre par l'autre côté (fig. 2, p. 31, et fig. 17, p. 58). Et plus tard, on observe dans le côté atteint une fente longitudinale, qui peut atteindre plusieurs décimètres de longueur (fig. 3, p. 32).

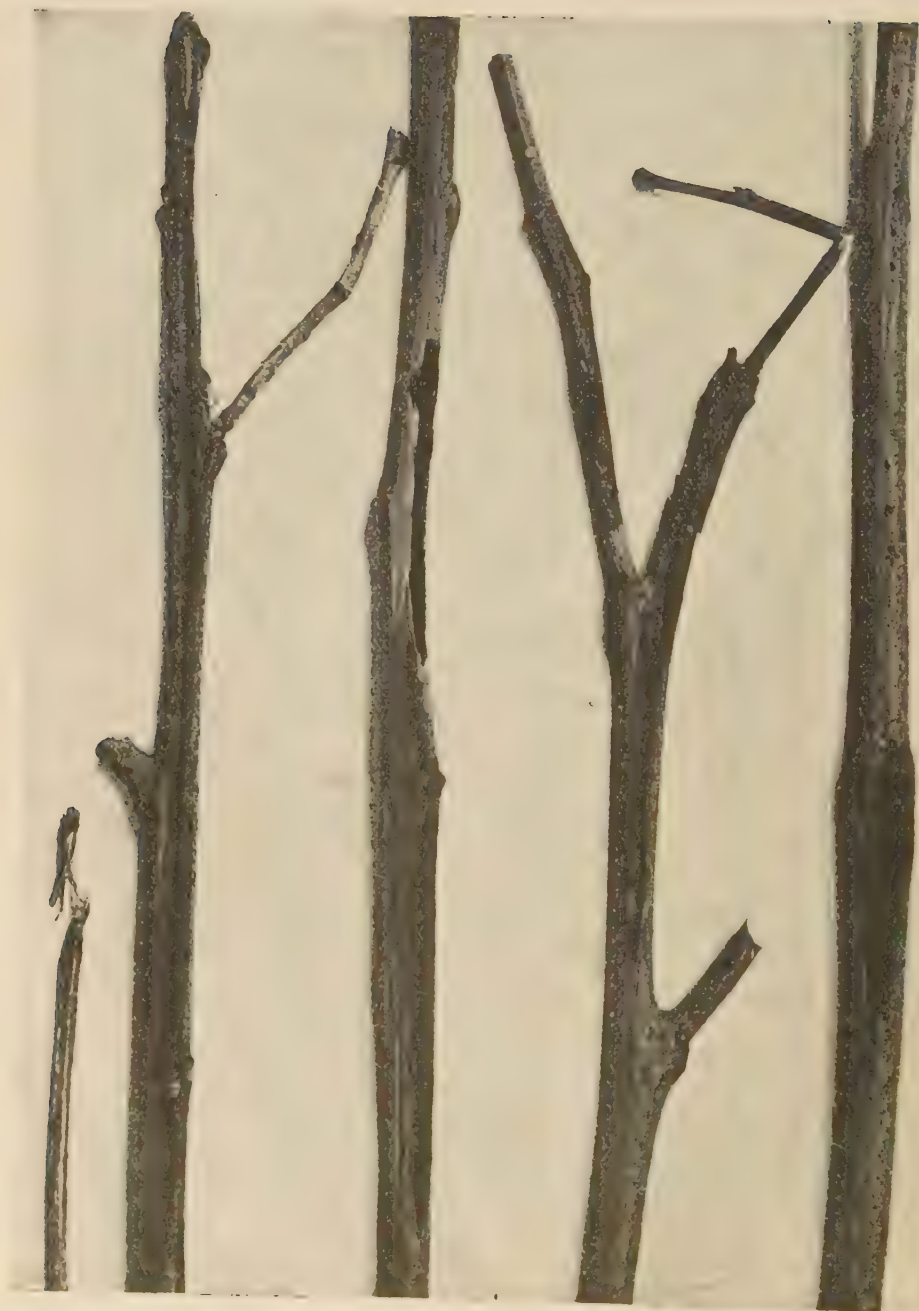


FIG. 3. — Chancres longitudinaux sur les rameaux de première année.

Ce fait est provoqué par la tension du côté non attaqué du rameau, qui continue à croître, aussi bien qu'au gonflement de la gomme. Parfois, cette fente est interrompue au niveau des nœuds. Si toute la circonférence du rameau est envahie, le rameau meurt. Les jeunes rameaux se courbent (fig. 2, p. 31, et fig. 17, p. 58), et leurs extrémités se flétrissent (fig. 4, p. 33). C'est à ce stade de l'évolution que la maladie attire l'attention où l'arbre tout entier paraît s'arrêter dans sa croissance (fig. 5, p. 34, et fig. 6, p. 35).

Les bourgeons infectés meurent; nous avons vérifié ce



FIG. 4. — Extrémités des rameaux courbés et desséchés.

fait par l'infection artificielle de pieds particuliers. Les jeunes semis meurent en peu de temps, d'où de graves dégâts dans les pépinières. Sur les rameaux lignifiés, on voit des chancres localisés (fig. 7, p. 36). Certains auteurs ont attribué ces chancres au *Fusarium lateritum*, forme conidienne du *Gibberella pulicaris* du mûrier (*Gibberella mori*), qu'on trouve fréquemment à la surface des chancres, et qu'ils pensent devoir pénétrer par les bourgeons tués par le froid de l'hiver. Ils doutent que *Bact. mori* puisse aussi les provoquer. Nous avons reproduit expérimentalement ces chancres en piquant des rameaux lignifiés et même des racines âgées, avec une aiguille souillée d'une culture pure de *Bact.*

mori. Après ce fait, nous pensons que ces chancres peuvent



FIG. 5. — Mûrier blanc de 5 ans, dont les rameaux sont inoculés. Remarquer la différence de croissance avec le rameau témoin.

être dûs aussi bien au *B. mori* qu'au *Fusarium*, et peut être aussi dûs dans quelques cas aux deux à la fois.

Les feuilles insérées près du côté infecté des rameaux,

sont atteintes ; mais celles qui sont insérées du côté sain, continuent à vivre normalement (fig. 2, p. 31, et fig. 17, p. 58). Autour des nervures de la face inférieure de la feuille, on observe par transparence beaucoup de petites taches translucides, ayant la forme angulaire (fig. 8, p. 36). Ces



FIG. 6. — Un pied inoculé à côté d'un pied témoin du même âge (5 ans).

taches s'accroissent lentement et fusionnent. C'est le premier symptôme de la maladie; nous l'avons obtenu 3-5 jours après l'inoculation. On voit souvent sur la face inférieure des feuilles et parfois sur la face supérieure, une pellicule blanche brillante de gomme desséchée (fig. 16, p. 55). Quelques jours après, les taches translucides sur la face inférieure de la feuille, commencent à se décolorer, devenant brunes,



FIG. 7. — Chancre sur des rameaux lignifiés.



FIG. 8. — Feuille de mûrier blanc, photographié quand les taches ont commencé à brunir.

puis noirâtres et ayant toujours le milieu blanc (fig. 9, p. 37, et fig. 10, p. 38). Les tissus autour de ces taches deviennent jaunes et dans les attaques sévères, une grande partie du limbe devient jaune. Les nervures deviennent noirâtres, res-



FIG. 9. — Feuille de mûrier à un stade avancé de la maladie.

semblant aux nervures des feuilles de platane parasitées par *Glæosporium nervisequum*. L'ensemble de ces taches forme après leur fusion de larges taches noirâtres (fig. 9 p. 37); parfois, on trouve des feuilles ayant une très grande

tache noire, couvrant la moitié du limbe. Les feuilles atteintes tombent prématurément. Les jeunes feuilles se dessèchent complètement (fig. 2, p. 31; fig. 4, p. 33, et fig. 17, p. 58); et sur les vieilles feuilles l'infection se traduit par des taches limitées.

Souvent les feuilles ne sont attaquées que partiellement. Les parties attaquées du pétiole et du limbe cessent de s'ac-



FIG. 10. — Taches isolées correspondant à des infections par les stomates.

croître et les parties non attaquées en continuant à s'accroître, provoquent une tension, qui a pour résultat la *déformation* et parfois l'*enroulement* de la feuille (fig. 2, p. 31, et fig. 17, p. 58). Sur les feuillés on trouve aussi des taches isolées (fig. 10, p. 38), réparties sans ordre, et qui correspondent à des infections stomatales séparées, comme nous allons le démontrer plus loin. Ces taches ne diffèrent en rien des taches précédentes, sauf qu'elles deviennent beaucoup plus grandes, pouvant atteindre plus d'un centimètre de diamètre; de sorte qu'on peut avoir des halos après que les tissus morts sont tombés.

ISOLEMENT DE LA BACTÉRIE ET MISE EN ÉVIDENCE DE SON ROLE PATHOGÈNE

MODE OPERATOIRE

Après avoir fait un examen microscopique démontrant la présence de bactéries en grand nombre dans les tissus, nous avons procédé à des tentatives d'isolement en culture pure à partir de fragments des rameaux et des feuilles prélevés dans les régions les moins altérées. Nous avons désinfecté superficiellement les rameaux dans la région choisie pour l'ensemencement, en essuyant avec un morceau de coton trempé, soit dans le bichlorure de mercure à 1 p. 1000, soit dans l'éther ; puis avec un scalpel stérilisé et froid, nous avons enlevé l'écorce et ensuite prélevé un fragment de bois que nous avons introduit aseptiquement, soit dans un tube d'eau peptone, soit dans un tube de gélose peptone. Pour l'ensemencement des fragments de feuilles, nous avons tout d'abord passé rapidement dans l'alcool à 75° (pour rendre leurs surfaces mouillables), nous les avons ensuite désinfectés en les plongeant pendant une minute dans le bichlorure de mercure à 1 p. 1000, puis nous les avons rincés avec de l'eau stérile et ensemencés dans des tubes de cultures d'eau peptone ou de gélose peptone.

Après que ces fragments ont été laissé à macérer plusieurs heures, dans ces tubes de cultures, nous avons fait l'isolement par la technique des dilutions en plaques. A la

suite, nous nous sommes trouvé en présence de deux types de colonies différentes, colonies blanches et colonies jaunes. Nous les avons repiquées séparément sur gélose peptone. Pour trouver la bactérie pathogène, nous avons inoculé des jeunes mûriers avec des cultures pures des deux types et âgées de 48 heures. La bactérie blanche se montrait pathogène et elle a provoqué chez les jeunes pieds les symptômes déjà indiqués; la bactérie jaune se montrait saprophyte; les pieds témoins (piqués aseptiquement), restèrent indemnes.

Pour l'identification, après un examen microscopique, nous avons réisolé par la même technique des pieds malades, la bactérie blanche que nous avons réinoculée avec succès à des pieds sains.

Comme on le voit plus loin, cette bactérie blanche, qui est la cause de la maladie, est *Bacterium mori* (Boyer et Lambert) emend Smith (53). La bactérie jaune est très probablement *Bacillus cubonianus* Macchiati (33); car nous avons retrouvé les caractères décrits par MACCHIATI — bactérie jaune, liquéfiant la gélatine, et formant des endospores et des capsules. — *Bact. mori* (B. et L.) Smith, a pour synonymes *Pseudomonas mori* (B. et L.) Stevens (56) et *Phytophthora Mori* (B. et L.) Bergey (9); car ceux-ci ont les mêmes caractères et provoquent la même maladie; quand aux autres micro-organismes indiqués par les savants italiens, il semble bien que ce ne sont que des simples saprophytes.

En étudiant cette maladie, nous avons varié les méthodes d'inoculation, suivant le but des recherches. Tout d'abord, nous avons inoculé en piquant les rameaux et les nervures des feuilles avec une aiguille fine souillée avec la culture (nous avons employé souvent, pour ce but, des cultures sur gélose inclinée, âgées de 24-48 heures); et ensuite, nous avons couvert les points de piqures par du collodion. Les témoins ont été piqués aseptiquement et couverts de

collodion. L'extrémité des rameaux et les parties lignifiées, ont été piquées. Pour que la bactérie puisse s'introduire dans les vaisseaux, il faut que l'aiguille touche le bois. Si les rameaux sont trop jeunes, il suffit de piquer l'écorce. Ensuite, nous avons inoculé, en injectant une suspension de la bactérie dans l'eau physiologique stérile, à l'aide d'une seringue de 0 mm. 4 de calibre. Ce moyen a donné de bons résultats. Sur les feuilles, nous avons souvent inoculé en aspersion d'une suspension et parfois en trempant les feuilles dans le liquide. Les racines mutilées, ont été arrosées par le même liquide. Après le deuxième essai, nous avons inoculé toujours, sans que l'aiguille ou l'eau soit stérilisée et sans couvrir les lieux de piqûres avec le collodion; approchant ainsi des conditions naturelles dans lesquelles cette maladie évolue.

Hôtes du *Bact. mori* (B. et L.) Smith

Les hôtes du *Bact. mori* sont les mûriers de deux espèces, *morus alba* et *morus nigra*.

Nous avons expérimenté avec les variétés suivantes : *Morus alba*: variété *Ihou* (à grandes feuilles), var. *moretti*, var. *fructa rosa* et *morus nigra*, var. *commune*. *Bact. mori* paraît être spécialisé aux mûriers. M. ARNAUD (2) a inoculé sans résultats, le pin d'Alep (*Pinus Halepensis*), l'olivier (*Olea Europea*), la vigne (*Vitis Vinifera*), et le laurier rose (*Nerium Oleander*). Nous avons échoué en inoculant (dans le jardin botanique) sept espèces de *Ficus*, à savoir : *Ficus sycomorus* L., *F. barbaka* walt., *F. rupens* wild, *F. subtrip-tinervia* mart., *F. rusbiginosa*, *F. élastica*, et *F. indica*.

IDENTIFICATION

CARACTERES MORPHOLOGIQUES

Observée à partir des cultures jeunes (24 heures) sur gélose peptone et après coloration au violet de gentiane phé-



FIG. 11. — *B. mori* montrant l'emplacement des corpuscules métachromatiques.

niquée, la bactérie se présente sous forme de bâtonnets à extrémités arrondies ; leur coloration est homogène. Ces bâtonnets ont de 2,5 μ de longueur et 1 μ de largeur en

moyenne et sont souvent réunis par paires et en chaînes de 3-10 éléments. Pas de spore, pas de capsule, réaction de Gram négative et non acido-résistante. L'organisme est mobile; dans une suspension d'une culture jeune (24 heures) dans l'eau physiologique stérile, on observe que les bâtonnets ont un mouvement rapide irrégulier et les chaî-



FIG. 12. — *B. mori* montrant le corpuscule métachromatique.

nes ont un mouvement de reptation. Par la technique de van ERMINGEN, nous avons pu mettre en évidence l'existence de 1-2 cils polaires.

En fixant des cultures jeunes (24 heures) par le formol (pendant 12 heures) et puis mordançant par l'alun de fer ammoniacal (12 heures), et ensuite colorant par l'hématoxyline de REGAUD (12 heures), la cellule bactérienne montre

une vacuole (fig. 11, p. 42) ce qui, d'après M. GUILLIERMOND (26) et (27), est l'emplacement des corpuscules métachromatiques. En vue d'observer ces corpuscules, nous avons coloré des cultures jeunes (24 heures), par le bleu de créosyle à 1 p. 100, pendant 24 heures, et nous avons observé un seul corpuscule dans chaque cellule bactérienne (fig. 12, p. 43).

Observée à partir des cultures âgées (3 semaines) l'organisme revêt une forme courte. A ce stade, la cellule bactérienne, ne se colore pas d'une façon homogène: les extrémités se colorent intensément (coloration bipolaire), tandis que le centre montre une vacuole.

Cultures

Caractères cultureux observés sur des cultures maintenues à la température du laboratoire 18° c. en moyenne.

(a) *Sur eau peptone* (PH=7). — 24 heures après l'ensemencement, trouble net qui va en s'intensifiant au bout de quelques jours. L'organisme se développe mieux à la surface où se forme une pellicule fragile qui se fragmente quand on agite et tombe au fond du tube, formant un sédiment blanc.

(b) *Sur gélose peptone* (PH=7). — (1) *En tubes inclinés.* — L'organisme se développe bien sous forme d'enduit muqueux blanchâtre, lisse, translucide, devenant granuleux avec le temps. Le milieu n'est pas coloré.

(2) *En plaques.* — Les colonies superficielles deviennent nettement visibles à l'œil nu 48 heures après l'ensemencement. Elles sont rondes, légèrement saillantes, blanchâtres, lisses, à bordure nette, devenant découpée avec l'âge. Ces

colonies atteignent 3-5 millimètres de diamètre au bout d'une semaine. La structure interne est d'abord homogène, puis devient granuleuse avec le temps. Les colonies qui se développent à l'intérieur sont peu nombreuses et demeurent très petites. Leur bordure est irrégulière. Cette particularité démontre *le caractère aérobie de l'organisme*.

(c) *Sur gélatine peptonée* (PH=7). — Pas de liquéfaction, 7 semaines après l'ensemencement en piqûre. Le développement se fait le long de la piqûre et s'étale à la surface. Le milieu n'est pas coloré.

(d) *Sur morceaux de pommes de terre* stérilisés par tyndalisation. — Le développement est lent, d'un enduit blanc, devenant avec le temps blanc sale. Le substratum devient légèrement grisâtre. L'eau glycinée dans l'ampoule inférieure du tube de Roux, demeure incolore.

CARACTERES BIOCHIMIQUES

(a) *Développement sur les milieux synthétiques*. — Nul sur Cohn ; l'organisme se développe copieusement sur Uschinsky avec la formation d'une pellicule à la surface. Le milieu devient bleu fluorescent.

Sur milieu Lasseur₁ dont la composition est la suivante :

Asparagine	gr.	0,900
Glycérine		2,500
Po ⁴ K ² H		0,250
So ⁴ mg		0,500
Cl ² ca		0,040
So ⁴ fe		0,010
H ² O	q. s.	100 c.c.

Au bout de 48 heures, trouble net au sein du tube avec la formation d'un voile à la surface. A ce temps le milieu est vert-jaunâtre d'une fluorescence bleue. Avec le temps le milieu devient jaune foncé et il se forme un sédiment blanc au fond du tube.

(b) *Action sur les composés hydrocarbonés.* — Développement avec acidification légère sans production de gaz sur glucose, galactose, saccharose, maltose, lactose, glycérine et mannite. Le rouge neutre n'est pas viré. Nous avons préparé ces milieux hydrocarbonés en ajoutant à l'eau peptone un volume égal de solutions de 2 % de ces composés. La stérilisation a été faite par tyndalisation.

(c) *Action sur les composés azotés :*

(1) *Ammoniaque.* — Pas de dégagement d'ammoniaque par le réactif de Nessler.

(2) *Indol.* — Pas d'indol décelable par le réactif de Salzkowski.

(3) *Nitrites.* — Dans des cultures, sur eau peptone additionnées de 1 % de nitrate de potasse, et en employant le réactif de GRIESS, pas de nitrites décelables.

(d) *Action sur le lait.* — Le lait n'est pas coagulé 7 semaines après l'ensemencement. La réaction est alcaline. Sur le lait additionné de tournesol une alcalinisation progressive a été constatée.

(e) *Production d'hydrogène sulfuré.* — En introduisant dans une culture jeune (48 heures) dans l'eau peptone, un papier filtre stérile trempé préalablement dans une solution d'acétate de plomb. Nous n'avons pas observé de noircissement après quelques jours.

CARACTERES BIOLOGIQUES

(1) *Aération*. — La tendance que manifeste l'organisme de se développer à la surface des différents milieux nutritifs, montre le caractère aérobic de l'organisme.

(2) *Dessication*. — Nous avons pu obtenir des cultures à partir de rameaux secs de l'année dernière, gardés 8 mois dans le laboratoire. Donc l'organisme peut bien résister à la sécheresse de l'été, aussi bien qu'à la longue conservation dans les tubes de cultures.

(3) *Virulence*. — L'organisme maintient sa virulence. Une année de transfert sur gélose peptone, n'a pas diminué sa virulence. Quand l'organisme a étéensemencé sur milieu LASSEUR, puis repiqué sur gélose peptone pour servir à l'inoculation, sa virulence a fortement diminué. Au lieu de 3-5 jours de durée pour l'apparition des symptômes sur les feuilles, il a fallu plus de 2 semaines. Je pense attribuer cette diminution de virulence plus à l'action d'antagonisme ou d'un bactériophage qu'à l'action du milieu lui même. Nous n'avons pas fait de filtrations.

(4) *Température*. — L'organisme se développe bien entre 18° c et 25° c. Des ensemencements sur gélose en plaques mises à l'étuve de 37° c. n'ont pas développé. Les moyens dont nous avons pu disposer ne nous ont pas permis de rechercher les températures extrêmes compatibles avec le développement. La température mortelle a été établie par la technique suivante : Nous avons fait une suspension dans l'eau physiologique stérile d'une culture jeune (48 heures), puis nous avons aspiré par des pipettes capillaires stériles, que nous avons fermées ensuite. Puis les plaçant dans un

bain-marie à température constante pour y être soumises durant 10 min. à une température déterminée. Après cela ces pipettes furent sorties du bain marie, refroidies, leurs extrémités brisées dans la flamme et leur contenu utilisé pour l'ensemencement des tubes d'eau peptone maintenus à la température du laboratoire. La température mortelle de l'organisme est celle pour laquelle le non développement est reconnu au bout d'une semaine.

Par l'emploi de cette technique, pour des températures échelonnées de 2 en 2 degrés entre 40° c. et 60° c., nous avons trouvé que la température mortelle de la bactérie se trouve comprise entre 50° c. et 52° c.

(5) *Influence de la réaction du milieu.* — Nous avons ajusté colorimétriquement la réaction de deux séries de tubes, contenant chacun 10 c.c. d'eau peptone, par échelons de 0,2 unités à des valeurs des PH comprises entre 4 et 9. Ces tubes ont été ensemencés à raison de 0,1 c. c. par tube, à l'aide de prélèvements effectués dans la culture jeune (48 heures) sur eau peptone. Ces cultures étaient maintenues à la température du laboratoire et furent observées fréquemment durant les deux premiers jours suivant l'ensemencement. Les premiers tubes dans lesquels on observe un trouble, sont considérés comme étant ceux pour lesquels la réaction du milieu est optimum. A la suite de deux semaines d'observation, l'ensemble des tubes dans lesquels on a constaté le développement démontre l'amplitude d'accommodation de la bactérie à la réaction du milieu. En appliquant cette technique nous avons trouvé que le :

PH optima : compris entre 6,2 et 7,4

PH maxima : 8,4

PH minima : 5.

EXPÉRIENCES ÉTABLISSANT LES VOIES NATURELLES DE PÉNÉTRATION DE LA BACTÉRIE DANS LE MÛRIER

On savait jusqu'alors uniquement que *B. mori* pénètre dans le mûrier à la faveur des blessures et des piqûres des tiges et des feuilles. Nos recherches ont permis de montrer que *B. mori* est capable de pénétrer aussi naturellement : 1) *par les stomates*, 2) *par des lésions des organes souterrains*; dont il n'avait pas été parlé jusqu'ici. Il est très possible aussi que *B. mori* pénètre le mûrier par les lenticelles. Voici les expériences qui mettent ces faits en évidence.

.. *Infection naturelle par les stomates.* — Tout d'abord dans l'orangerie du jardin botanique de Nancy, trois pieds sains de mûrier indemnes de blessures, et âgés de deux ans, ont été vaporisés à l'aide d'une suspension dans l'eau physiologique stérile, d'une culture pure âgée de 48 heures. Ensuite, nous les avons recouverts par des cloches pendant quelques heures, pour maintenir l'humidité. Dès le cinquième et sixième jour, on pouvait observer par transparence, des taches isolées, angulaires et translucides, sur les faces inférieures des feuilles, où se trouvent localisées les stomates. Ce sont ces taches isolées qui ont été observées notamment par ARNAUD (2) (en France), et DOIDGE (16) (Afrique du Sud). Un pied témoin vaporisé par l'eau physio-

logique renfermant une suspension stérile de la bactérie et recouvert par une cloche ne montrait aucun symptôme.

En outre, par temps humides, nous avons vaporisé en plein air, des arbustes de 5 ans et de 10-15 ans, aussi bien que des jeunes semis, et ils ont tous montré le même symptôme. Trois jours après la vaporisation, avant que les tâches soient visibles, en faisant des coupes dans des feuilles de

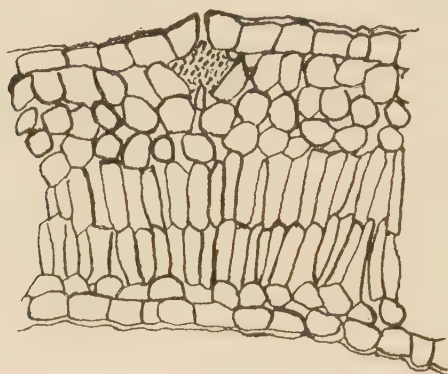


FIG. 13. — Coupe dans une feuille de *Morus alba* montrant *B. mori* dans la chambre sous-stomatique.

morus alba après fixation dans le RÉGAUD et ensuite coloration par l'hématoxyline ferrique, nous avons observé la bactérie dans la chambre sous-stomatique (fig. 13, p. 50), fait démontrant que l'organisme a pénétré par la stomate.

Infection par des lésions des organes souterrains. — Des jeunes semis de mûrier de quatre mois dont les racines avaient été préalablement lésées, ont été repiqués dans des petits pots et le sol a été arrosé avec une suspension aqueuse d'une culture pure de 48 heures. Au bout d'une semaine, nous avons constaté sur les feuilles des tâches

translucides anguleuses et coalescentes (une caractéristique de la maladie); puis les veines et les tiges commençaient



FIG. 14. — Rameau non blessé vaporisé avec une suspension de *B. mori* et montrant des taches dans les endroits où sont localisées les lenticelles.

à brunir. Après quatre semaines, la plupart des jeunes pieds ont montré de la flétrissure. En faisant des coupes dans les

racines, tiges et feuilles, nous avons observé la bactérie en abondance dans les tissus ; la propagation se produit par trajets infectés. Des témoins, soit mutilés, mais non arrosés avec la suspension bactérienne, soit non mutilés, mais arrosés avec la suspension, restèrent indemnes. Toutefois, nous devons citer que l'infection par les racines, n'est très évidente que dans le cas de jeunes semis ; car nous avons inoculé des racines lignifiées par piqûres, et la maladie se traduisit par des plaies chancreuses locales ; et il paraît bien que la bactérie se transmet mal dans les tissus, durcis des formations secondaires.

Pénétration par les lenticelles. — Nous n'avons pas effectué des recherches spéciales pour mettre en évidence la pénétration de l'organisme par les lenticelles ; mais les pieds vaporisés par la suspension bactérienne, avaient les tiges infectées sans que celles-ci soient blessées. Des taches translucides se montraient où se trouvent localisées les lenticelles (fig. 14, p. 51) ; puis ces taches ont noirci. Il est très probable que l'organisme a pu pénétrer dans les tiges par les lenticelles.

CARACTÈRES INTERNES DE LA MALADIE

C'est une maladie à la fois vasculaire et parenchymateuse. Les bactéries sont très nombreuses dans la région atteinte, et sont formées d'éléments très courts souvent réunis par deux. Ces micro-organismes forment des poches de gomme (colorable par le rouge de ruthenium) à la place des cellules qu'ils ont dissoutes; et dans cette gomme ainsi formée ces organismes sont enrobés. Parfois en montant des coupes dans l'eau, en vue de rechercher la bactérie dans les tissus, on la confond avec les mitochondries en forme de bâtonnets (chondriocontes). Pour se rendre bien compte, nous avons prolongé l'observation au microscope de quelques minutes. Dans le cas douteux, les mitochondries se vésiculent.

Comme la gomme dans laquelle sont englobées les bactéries, est soluble dans l'eau, ces organismes se dispersent dans les coupes montées dans l'eau, et se rencontrent dans des tissus qui n'en présentaient pas naturellement; et par conséquent rend la localisation impossible.

Pour remédier à cela, suivant la recommandation de M. ARNAUD, nous avons coagulé la gomme bactérienne, en trempant des fragments atteints des tiges et des feuilles dans une solution de sous-acétate de plomb à 10 p. 100 pendant 12-24 heures; ensuite, nous les avons inclus dans le collodion pour que la masse gommeuse adhère bien aux tissus; puis après lavage à l'eau stérile, nous avons fait les

coupes, que nous avons traitées à l'eau de javel, qui dissout les matières protoplasmiques en laissant les amas gommeux des bactéries. Comme colorants, nous avons employé le rouge de ruthenium, la sufranine, et le plus souvent le violet de gentiane. Nous avons aussi fixé des fragments par le Regaud et fait des inclusions dans la paraffine et ensuite

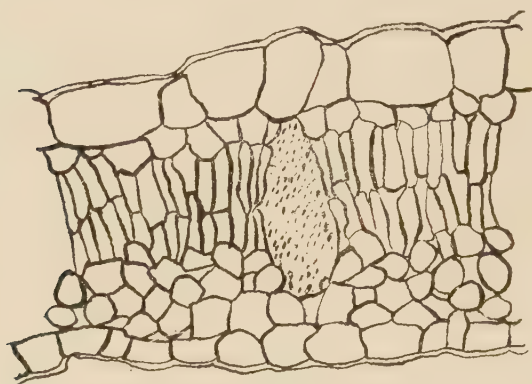


FIG. 15. — Coupe dans une feuille de *Morus alba* montrant l'action mécanique de *B. mori*. Ce n'est qu'assez loin du foyer bactérien qu'on voit des méats.

fait des coupes au microtome. Ces coupes ont été mordancées à l'alun de fer ammoniacal et colorées à l'hématoxyline de Regaud.

Quand les bactéries sont introduites dans les vaisseaux par piqûres, elles montent dans ceux-ci suivant le sens de la sève brute et passent aux nervures de la feuille par l'intermédiaire du pétiole. Des nervures, les bactéries se répandent dans le parenchyme et occupent l'espace intercellulaire (fig. 16, p. 55). Puis on voit les cellules plasmolysées ayant leur masse protoplasmique contractée et désagrégée. Ce

stade de l'évolution se traduit extérieurement par l'apparence de taches translucides (fig. 8, p. 36). Les bactéries en se multipliant provoquent par leur masse une action mécanique pour écarter et déchirer les cellules (fig. 15, p. 54). Ce n'est qu'après la plasmolyse que les bactéries pénètrent dans les cellules et complètent leur destruction; formant à leur place des poches gommeuses (fig. 16, p. 55). Il est rare

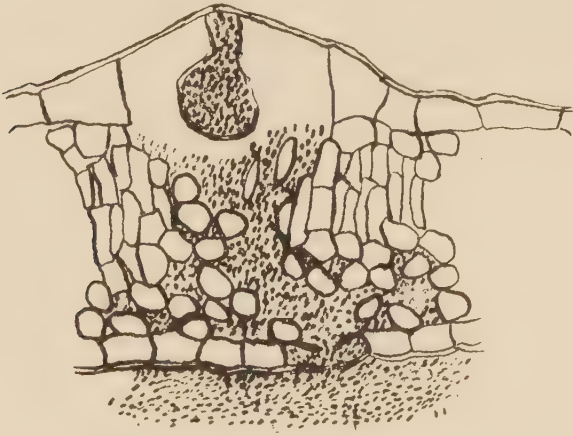


FIG. 16. — Coupe dans une feuille de *Morus alba* montrant un stade avancé de la maladie. Les bactéries qui ont crevé l'épiderme sortent à la face inférieure et forment après la dessication de la gomme une pellicule brillante.

d'observer les cellules au moment de leur envahissement, et on ne voit souvent que soit des poches gommeuses, soit des cellules saines (fig. 16, p. 55); cela indique l'action énergique du parasite.

Des coupes dans des feuilles fraîches ont été faites pour voir s'il y a une influence de la bactérie sur les cellules qui avoisinent la région atteinte. En trempant ces coupes dans une solution de caféine saturée ou dans une solution saturée

de bichromate de potasse, nous n'avons pas observé de dépôts phénoliques dans les vacuoles. Il paraît que l'organisme ne stimule pas les tissus peu lointains, et que son action est locale. Pour cela, on voit des feuilles végétant normalement sur un rameau dont la presque totalité des vaisseaux est envahie (fig. 2, p. 31, et fig. 17, p. 58); et c'est pour cela aussi qu'une partie de la feuille alimentée par quelques vaisseaux pouvait continuer à vivre, tandis que la plus grande partie de la feuille est atteinte. Tous les tissus de la feuille sont envahis. Plus tard, l'action mécanique de la masse bactérienne déchire l'épiderme, et la gomme sort à la surface de la feuille formant une mince couche de gomme, qui, après dessiccation, forme une pellicule blanche brillante (fig. 17, p. 58); quelquefois la gomme sort par les stomates.

A ce stade de l'évolution, on observe extérieurement le brunissement des taches. L'action des bactéries, qui ont pénétré par les stomates ne diffère guère; et après qu'elles se sont multipliées dans la chambre sous-stomatique, elle envahissent les tissus et pénètrent aussi dans les nervures.

L'organisme ne montre pas une tendance à descendre dans les vaisseaux. Des pieds, dont les feuilles ont été trempées dans la suspension bactérienne, et qui ont montré de la flétrissure, avaient les bourgeons axillaires en végétation. C'était sans doute une conséquence de la maladie, car les bourgeons axillaires dans les rameaux sains ne poussent que l'année suivante de leur formation. Et bien, ces nouveaux rameaux étaient indemnes; fait montrant que la bactérie n'a pas descendu loin dans le pétiole, comme il est vérifié au microscope.

Dans les rameaux, quand les vaisseaux sont obstrués et détruits par la gomme bactérienne, les bactéries envahissent les tissus du bois et de l'écorce et constituent à leur place

des poches gommeuses comme dans la feuille. Dans les attaques sévères, cette gomme en gonflant, crève l'écorce longitudinalement formant ainsi une fente d'où sort la gomme ; mais souvent la gomme sort par les lenticelles en forme de vermicelles dressés et flexueux (fig. 1, p. 30). La fente longitudinale est aussi provoquée en partie par la tension des autres tissus du rameau qui continuent à s'accroître. A ce moment, l'écorce devient noire. Parfois, la moelle aussi est atteinte et montre macroscopiquement une coloration jaune, et dans ce cas des chancres noirs se forment, qui peuvent atteindre plusieurs décimètres de longueur (fig. 3, p. 32). Les tissus morts sont séparés des tissus vivants par une couche de liège et la fente longitudinale est remplie l'année suivante par un tissu cicatriciel. En faisant des coupes quelques centimètres par dessous le point d'inoculation, nous avons trouvé des thylls dans les vaisseaux, qui ont été formées sans doute sous l'influence d'un stimulus de l'organisme parasite, car nous n'avons pas observé ces thylls dans les vaisseaux des rameaux sains. Le parasite ne descend que très peu dans les vaisseaux. En faisant des coupes par dessous le point d'inoculation, on ne le trouve plus après quelques centimètres, et il n'y a pas de formation de gomme.

Les altérations sur les rameaux ne sont graves que si ceux-ci sont jeunes ; c'est pourquoi les extrémités des rameaux sont les plus attaquées et souvent meurent (fig. 4 p.). Les rameaux lignifiés piqués, montrent des chancres locaux (fig. 7, p. 36).

Comme on l'a déjà indiqué sur les feuilles — l'action de la bactérie est locale — et les rameaux qui ont une partie atteinte de leurs vaisseaux, comme il est souvent le cas, continuent à vivre normalement par l'autre partie indemne des faisceaux vasculaires. Mais ces rameaux envahis à moi-

tié ont souvent leurs extrémités mortes (fig. 17, p. 58); à cause de la jeunesse de leurs tissus, le parasite peut envahir tout leur trajet.

L'organisme se développe quand on l'introduit dans les tissus de l'écorce et si les cellules de bois ne sont pas encore différenciées, il les envahit également, c'est pourquoi les



FIG. 17. — Jeune rameau inoculé d'un seul côté, à son extrémité desséchée. On remarque la courbure du rameau et la torsion des feuilles.

extrémités des rameaux sont les plus altérées. Certains auteurs indiquent que l'inoculation ne se fait avec succès que si on pique le bois. Mais nous avons obtenu des infections par piqûres sans toucher le bois, et aussi avec vaporisation sans que les rameaux soient blessés (fig. 14, p. 15). En outre, nous avons observé plusieurs infections naturelles où les tissus de l'écorce étaient envahis sans que le bois ou les vaisseaux soient occupés, ainsi qu'il résulte de notre observation microscopique.

La maladie ne se transmet que très difficilement par la voie interne, d'une année à l'autre. Des pieds malades, mis

en observation dans l'orangerie aussi bien que nos observations dans le champ d'expérience de la station de Versailles, nous ont montré que les jeunes rameaux poussant sur des rameaux infectés, n'étaient que très rarement atteints. Nous pensons que la cause de ce fait est due à la localisation de l'action du parasite. Par conséquent, les bourgeons situés dans la partie non attaquée du rameau, poussent normalement, et les bourgeons situés dans la partie atteinte meurent. Nous avons reproduit expérimentalement ce dernier fait, en inoculant les bourgeons: ceux-ci brunissent et puis meurent. Ceci dit, nous croyons que l'infection des jeunes pieds de mûrier propagés par marcottage, n'est pas provoquée par la voie interne, comme l'a pensé WORMALD (64) (en Angleterre), mais elle est plutôt due à la voie externe.

CONDITIONS DE DÉVELOPPEMENT

Comme nous l'avons déjà dit, la maladie ne se transmet pas d'une année à l'autre en passant par la voie interne des rameaux âgés aux rameaux jeunes. La transmission par la graine est impossible à cause de la destruction totale des jeunes tissus. Donc, *la transmission ne se fait que par la voie externe*. Les pluies jouent un grand rôle dans la propagation de la maladie des feuilles et des rameaux atteints aux feuilles et des rameaux sains. Car la gomme bactérienne qui sort d'eux est soluble dans l'eau, et ainsi l'eau contaminée infecte les feuilles par les stomates et les rameaux par les lenticelles (très probablement); nous avons démontré ce fait expérimentalement.

A la suite de deux années pluvieuses, on a constaté une extension croissante de la maladie dans les pépinières de la station de Versailles. Cependant la bactérie résiste à la sécheresse, comme nous l'avons démontré en faisant des isolements en partant des rameaux très secs, et M. ARNAUD (4) signale que la maladie existait chaque année à Montpellier (région sèche); mais les dégâts ne sont pas graves comme dans les régions pluvieuses. Les blessures naturelles, chute des grêles, peuvent jouer un rôle dans la propagation. Les cicatrices résultant de la chute des feuilles et des stipules, ne nous paraissent pas susceptibles d'être une voie de pénétration, car à ce moment les rameaux sont déjà lignifiés. Les insectes piqueurs sont rares chez le mûrier.

L'humidité du sol joue un grand rôle dans l'infection des

jeunes semis au moment du repiquage, car la bactérie pénètre par leurs racines, présentant nécessairement des blessures. Nous avons démontré ce fait expérimentalement. Aussi nous avons essayé de trouver si la réaction du sol influe sur le développement de la maladie. Pour cela, nous avons transplanté des pieds de deux ans les uns dans le sable de Fontainebleau (réaction acide) et les autres dans les craies broyées (réaction alcaline). Ces pieds ont été laissés à végéter dans ces milieux; et furent inoculés quand leurs rameaux avaient quelques décimètres de longueur. Le résultat de cette expérience fut que tous les pieds ont été également atteints.

Les dégâts de la maladie sont très graves au commencement de la végétation, et les jeunes semis meurent complètement; mais l'infection peut arriver à la fin de la saison aussi. Dans ce dernier cas, seules les extrémités des rameaux sont atteintes, et les vieilles feuilles montrent des taches limitées.

MOYENS DE LUTTE

Les rameaux et les feuilles atteints fournissent la source d'infection. La taille, en enlevant ces parties atteintes, supprime cette grande source d'infection. Les mûriers atteints à la station de Versailles, qui ont été taillés pendant l'hiver, ne présentent pas des attaques graves comme l'année dernière.

PASINETTI (39), en 1928, a fait des essais de traitement dans les pépinières de Vénétie (Italie), où les dégâts ont été très graves. La bouillie bordelaise se montrait insuffisante, mais il a obtenu des bons résultats en taillant les parties atteintes, et en traitant chaque semaine, à partir du mois de mai, avec l'un des deux mélanges suivants:

- | | |
|---|------------|
| 1° Permanganate de potasse (dans l'eau) . . | 0 gr. 2 % |
| Amidon | 2 gr. % |
| 2° Bichlorure de mercure (dans l'eau) | 0 gr. 06 % |
| Chaux éteinte | 1 gr. 5 % |

Nous avons essayé le fluosilicate de soude à 0 gr. 5 % (dans l'eau) comme traitement préventif chez les jeunes semis, et il a donné de bons résultats. Notre expérience consistait à vaporiser la solution sur une vingtaine de pots. (Dans chaque pot, il y avait cinq jeunes semis de trois mois.) Ensuite, nous avons vaporisé les mêmes pots par une suspension bactérienne de *B. Mori*. Des pots témoins ont été aussi vaporisés. La plupart des pieds témoins ont mani-

festé de la flétrissure (80 %), tandis que les pieds traités n'ont montré que quelques infections. Cette expérience a été faite dans l'orangerie et on peut l'appliquer en plein air dans les pépinières, à condition de renouveler l'aspersion de cette solution après les pluies.

La pénétration du parasite par la racine des jeunes semis intéresse les pépinières de mûriers, qui devront être assainies préventivement, ainsi que les trous où sont repiqués ces semis, car leurs racines présentent nécessairement des blessures qui peuvent être des voies d'infection. Nous n'avons pas trouvé des variétés résistantes parmi celles qui ont servi à nos expériences.

CONCLUSIONS

1° La maladie est provoquée par *Bacterium Mori* (B. et L.) E.-F. Smith ;

2° Pour les micro-organismes, auxquels on a souvent attribué les altérations, il semble bien que ce ne sont que de simples saprophytes ;

3° *B. Mori* paraît être spécialisé aux mûriers ;

4° C'est une maladie des vaisseaux et du parenchyme en même temps ;

5° La bactérie pénètre par des *blessures* des tiges, des feuilles et des racines, aussi bien que par les *stomates* et très probablement par les *lenticelles* ;

6° La bactérie, une fois introduite dans les vaisseaux, elle monte dans ceux-ci, suivant le sens de la sève brute, jusqu'à ce qu'elle arrive dans les nervures de la feuille, d'où elle envahit le parenchyme. La bactérie ne montre pas une tendance à descendre dans les vaisseaux ;

7° La maladie est grave pour les jeunes rameaux et feuilles, et mortelle pour les jeunes semis ;

8° La maladie se transmet d'une année à l'autre, des parties âgées aux parties jeunes, *par la voie externe* ;

9° La taille s'est démontrée efficace en éliminant les parties atteintes ; le fluosilicate de soude, employé par nous comme moyen préventif, a donné des résultats satisfaisants.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. ARCANGELI (G.). — Sopra la Malattia Dell'olivo Detta Volgarmente Rogna. (*Institute Bot. R. della Università di Pisa*, fasc. 1, 1886).
2. ARNAUD (G.) et SECRÉTAIN (Ch.). — Gommose bacillaire du Mûrier en 1913 (*Ann. des Epiphyties*, t. II, pp. 233-249, 1915).
3. ARNAUD (G.). — Etudes sur les Maladies du Mûrier (*Ann. des Epiphyties*, t. III, pp. 25-30, 1916).
4. ARNAUD (G. et M.). — La gommose bacillaire du Mûrier (*Encyclopédie Mycologique*, vol. II, pp. 1722-1728, Paris 1931).
5. ARTHUR (J.-C.). — Diseases of the pear (*N.-York Agric. Expt. Stat. Rept.*, 3, pp. 357-367, 1884).
6. ARTHUR (J.-C.). — Histology and Biology of the Pear Blight (*Proc. Phil. Acad. Nat. Sc.*, pp. 322-341, 1886).
7. DE BARY (A.). — Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, pp. 511-512, Leipzig 1884.
8. DE BARY (A.). — Vorlesungen über Bacterien, pp. 137-138, Leipzig 1885.
9. BERGEY. — Manual of Determinative Bacteriology, p. 191, 1923.
10. BONNIER (G.). — *Cours de Botanique*, t I, pp. 216-217, 1923.
11. BOYER (G.) et LAMBERT (F.). — Sur deux nouvelles maladies du mûrier (*C. r. Ac. Sc. Paris*, 117, pp. 342-343, 1893).

12. BURRILL (T.-J.). — Trans. Ill State Hort. Soc. 14, *Ibid.* 80, 1878.
13. BURRILL (T.-J.). — Anthrax of fruit trees: or the so called fire blight of pear and twig blight of Apple trees (*Proc. Am. Ass. Adv. Sci* 29, pp. 583-597, 1881).
14. CHRISTOFF (A.). — The Mulberry bacterial blight in Bulgarie. (*Zemledelska Misi*, 1. 1930, pp. 193-220, en bulgare résumé en anglais).
15. CUBONI (G.) et CJARBARINI (A.). — Sopra una malattia del gelso in rapporto colla flaccidezza del baco da seta (*Atti R. Accad. Naz. Lincei, Rend. cl. Sci. Fis., Mat e Nat.* 6, p. 26, 1890).
16. DOIDGE (E.-M.). — The South African Mulberry Blight (*Ann. of Appl. Biology* 2, pp. 113-124, 1915).
17. DOIDGE (E.-M.). — The rôle of Bacteria in plant diseases (*S. African journ. Sci.*, 16, 1919).
18. DUFRENOY (J.). — Observations sur les modifications pathologiques de la forme des vacuoles des cellules végétales (*Ann. des Epiphyties*, t. 14, 1928, pp. 227-268).
19. DUFRENOY (J.). — Le vacuorne des cellules périvasculaires (*Protoplasma*, t. XI, n° 2, 1930, Leipzig).
20. DUFRENOY (J.). — Modifications pathologiques du métabolisme cellulaire chez les Tabacs (*Ann. des Epiphyties*, 18° année, n° 4, 1932, pp. 259-280).
21. ELLIOTT (Ch.). — *Manual of Bacterial Plant Pathogens*, Londres 1930, pp. 166-169.
22. FAULWETTER (R.-C.). — Wind-blown rain, a factor in disease dissemination (*Jour. Agric. Res.*, X, 1917, n° 12, p. 639).
23. FERRARIS (T.). — A proposito della lotta contro la bacteriosi del gelso (*Curiamo le Piante*, 6, pp. 180-182, 1928).

24. FOËX (Et.). — Pathologie du Tabac (*Memorial du Service des Tabacs*, Berger-Levrault, Nancy, 1930).
25. GAIN (Ed). — Cours de pathologie végétale.
26. GUILLIERMOND (A.). — Sur la structure des Bactéries (*C. R. Ac. Sc.*, t. 194, pp. 2322-2324, le 2 juin, 1932).
27. GUILLIERMOND (A.). — Nouvelles observations sur la structure des Bactéries (*C. R. Soc. Biol.*, t. CXIII, pp. 1095-1100, 8 juillet 1933).
28. HARTIG (R.). — *Lehrbuch der Baumkrankheiten*, Berlin 1882, pp. 36-38, édition de 1889.
29. IDETA (A.). — *Handbook of the plant diseases of Japan*, pp. 482-483, 1914.
30. JOHNSTON (J.-R.). — History and cause of the coconut bud rot (*Un. States Bur. Plant. Ind*, Bull. 228).
31. LABROUSSE (F.). — Essais sur la technique bactériologique en pathologie végétale (*Ann. des Epiphyties*, 18^e année, n^{os} 4 et 5, 1932, pp. 221-247 et 317-336).
32. LASSEUR (Ph.), THIRG (G.), DUPOIX (A.) et OLIVIER (M.). — Influence du phosphore et du magnésium sur la fonction fluorescigène. (*Lab. de Micro.*, Faculté de Pharmacie de Nancy, fasc. III, 190, pp. 35-52).
33. MACCHIATI (L.). — Sulla biologia del *Bacillus Cubanianus* sp. nov. (*Malpighia* 5, pp. 289-303, 1892).
34. MACCHIATI (L.). — Lo *Streptococcus bombycis* e la flaccidezza del baco da seta (*Stazione Sperim. Italiane*, vol. XXIII, 1892).
35. MANGENOT (G.). — *Données Morphologiques sur la matière vivante*, Paris, 1930.
36. MAUBLANC (A.) et DELACROIX (G.). — *Maladies des plantes cultivées*, Paris, 1926, pp. 363-415.
37. OSBORN (T.-G.-B.). — *Annual Rept. of the Const. Botanist and veg. Patho. Rept. Min. Agr. S. Australia*, p. 68, 1924.

38. PAMMEL (L.-H.). — Bacteriosis of rutabaga, *Bacillus campestris* n. sp. (*Iowa Agric. Expt. Stat. Bull.*, 27, 1895).
39. PASINETTI (L.). — Suggerimenti terapeutici contro la batteriosi del gelso (*Curiamo le Piante* 6, pp. 2-6, 1928).
40. PEGLION (V.). — Una Nuova Malattia della Canapa, Batteriosi dello stelo (*Malpighia*, Anno 10, 1896, pp. 556-560).
41. PEGLION (V.). — La Batteriosi del gelso (*Centralblatt f. Bakt.* 3, pp. 10-13, 1897).
42. PRILLIEUX (E.). — Sur la coloration et le mode d'altération de grains de blé roses (*Ann. de Sc. nat.*, 6^e série, t. VIII, 1879).
43. PRILLIEUX (E.). — *Maladies des plantes agricoles*, pp. 18-19, 1895.
- 44a. SAVASTANO (L.). — Patologia arborea applicata, Napoli, 1910, p. 216.
- 44b. SAVASTANO (L.). — Tuberculosi, iperplasie e tumori dell'olivo Napoli, *Comp. rend.*, CIII.
45. SAVULESCU (Th.). — L'état phytosanitaire en Roumanie au cours de l'année 1928-1929. (*Ann. de l'Inst. de Rech. Agro. de Roumanie*, 1930).
46. SMITH (E.-F.). — *Bacillus tracheiphilus* sp. nov. die Ursache des Verwelken's Verschiedener Cucurbitaceae (*Cent. f. Bakt II Abl. Bd I*, pp. 364-373, 1895).
47. SMITH (E.-F.). — A bacterial disease of the tomato, egg plant, and irish potato (*Bull. 12 Dn. Veg. Phys. and Path. U. S. Dept. of Agric.*, 1896).
48. SMITH (E.-F.). — A bacterial disease of cruciferous plants (*Science* S. June 1897, p. 963).
49. SMITH (E.-F.). — Bacteria in relation to plant disease (*Carnegie Inst. Washington*, vol. I. 1905; vol. II, 1911; vol. III, 1914).

50. SMITH (E.-F.). — Bacterial blight of Mulberry (*Science* 31, pp. 792-794, 1910).
51. SMITH (E.-F.). — Bacterial Mulberry blight (*Phytopath.* 2, p. 175, 1912).
52. SMITH (E.-F.). — Identity of the American and French Mulberry blight (*Phytopath* 4, p. 34, 1914).
53. SMITH E.-F.). — An Introduction to Bacterial Diseases of Plants, Philadelphie et Londres 1920, pp. 340-358 et 474-572.
54. SPIECKERMANN (A.). — Beitrag zur Kenntniss der Bakteriellen Wundfaulnis der Kulturpflanzen (*Landw. Jahrbucher*, 31, Bd, Berlin, 1902, pp. 163-174).
56. STEVENS (F.-L.). — The fungi which cause plant disease, pp. 30-31, 1913.
57. STEWART (F.-C.). — A bacterial disease of sweet corn (*N.-York Agric. Exp. Stat. Bull.*, 130, 1897).
58. VOGLINO (P.). — Ricerche intorno alle macchie nere delle foglie del gelso ed alla flacidezza del baco da seta. (*Coltiv.* 9, p. 39, 1894).
59. WAITE (M.-B.). — Results from recent investigations in pear blight (*Bot. Gaz.* 16, 259; *Ann. Ass. Adv. Sci. Proc.* 40, 315, 1891).
- 59 b. WAITE (M.-B.). — Cause and Prevention of pear blight (*Year Book, U. S. Dept. of Agric.*, 1895, pp. 295-300).
60. WAKKER (J.-H.). — Vorläufige Mittheilungen über Hyacinthenkrankheiten. (*Bot. Centralblatt*, nov. 1883, Bd. XIV, n° 23, pp. 315-316).
61. WAKKER (J.-H.). — Het geel of nieuwziek der Hyacinthen veroorzaakt, door *Bacterium Hyacinthi* Wakker, Haarlem, 1884, 1885, 1887.
62. WOLF (F.-A.) et SHUNK (I.-V.). — Tolerance to acids of certain bacterial plant pathogens (*Phytopathology*, t. II, 1921, pp. 244-250).

63. VAN DER WOLK (P.-C.). — Study of a bacterial disease of soy beans and the nature of the root nodules of *Glycine hispida* and *Arachis hypogea* (*Cultura* 28, 1916, n° 336, pp. 268-285, et n° 337, pp. 300-319).
64. WORMALD (H.). — The Mulberry Blight in Britain (*Ann. Appl. Biol.* II, pp. 169-174, 1921).
65. WORMALD (H.). — East Malling Res Station (*Ann. Rept.*, p. 120, 1925).

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
AVANT-PROPOS	7
Généralités sur les maladies bactériennes.....	9
Historique de la gommose bacillaire du mûrier.....	24
Répartition géographique	26
Matériel employé dans nos recherches personnelles.....	27
Caractères externes de la maladie obtenus expérimentalement.....	29
Isolement de la bactérie et mise en évidence de son rôle pathogène.....	39
Identification.....	42
Caractères morphologiques	42
Caractères cultureux	44
Caractères biochimiques	45
Caractères biologiques	47
Expériences établissant les voies naturelles de pénétration de la bactérie dans le mûrier.....	49
Caractères internes de la maladie.....	53
Conditions de développement.....	60
Moyens de lutte.....	62
CONCLUSIONS.....	64
BIBLIOGRAPHIE	65

DEUXIEME THESE

Propositions données par la Faculté :

**ZOOLOGIE : PHÉNOMÈNE DE LA COAGULATION
DU LAIT**

BOTANIQUE : LES UREDINALES

Vu et proposé d'imprimer.

Nancy, le 1^{er} décembre 1934

LE PRÉSIDENT DE THÈSE :

E. GAIN.

Vu et approuvé.

Nancy, le 8 décembre 1934

LE DOYEN

DE LA FACULTÉ DES SCIENCES :

CORNUBERT

Vu et permis d'imprimer.

Nancy, le 9 décembre 1934

LE RECTEUR DE L'ACADÉMIE

BRUNTZ

Président du Conseil de l'Université.

